コリンエステラーゼ酵素標準物質ロットの更新概要

（JCCLS 認証標準物質常用参照標準物質：ChE JCCLS CRM-002b）

Outline of New Lot of JCCLS Certified Enzyme Reference Material for Pseudo-ChE

桑　克彦（JCCLS 理事，平成 19 年度 JCCLS 認証委員会･標準物質小委員会 委員長，筑波大学大学院 准教授）

Katsuhiko Kuwa(Director of JCCLS, Chairperson of Subcommittee of Reference Materials of Committee of Certification on JCCLS, Associate Professor, University of Tsukuba)

JCCLS 認証委員会標準物質小委員会
Subcommittee of Reference Material of Committee of Certification on JCCLS

桑　克彦（筑波大学大学院）、関口 光夫（前日本大学板橋病院臨床検査部）、細萱 茂実（日本臨床衛生検査技師会：山梨大学医学部附属病院検査部）、大澤　進（九州大学大学院）、美崎 英生（日本臨床化学会：（株）カイノス）、間部 杉夫（日本分析機器工業会：オリンパス光学工業（株））、小林　隆（日本臨床検査薬協会：栄研化学（株））、梅本　雅夫（（中法）検査医学標準物質機構）、植田　成（旭化成ファーマ（株））、吉海　毅（ロシュ・ダイアグノスティックス㈱）

コリンエステラーゼ常用酵素標準物質（JC・ERM for pseudo-ChE 20060201）（Lot 001）のロットの更新を行ったのでその概要を示す。なお、本ロットから本標準物質の名称および記号を新たに系統的な扱いとした。

本標準物質の設定手順や認証書の内容については、ISO の国際文書にしたがって準備している。標準物質は、公的に扱われるものであることから、国際的に通用する性格を持たせなくてはならない。本委員会ではこのような状況を踏まえて、国際整合性を確保した内容のものを設定してきた。このような設定論理は、今後も踏襲されるものである。

経過の概略

1. 候補品製造の公募

血清中偽性コリンエステラーゼ（pseudo-cholinesterase）活性測定用の常用酵素標準物質（ERM）のロットの更新にあたっては、候補品製造の公募を平成 19 年 5 月 1 日に行った。公募内容は、前ロットの設定条件および規格を継続することとし、別紙のごとくとした。

なお、本公募は、コリンエステラーゼと酵素標準物質（ERM）の 2 種について同時に行った。また、候補品製造の公募日は、前ロットと同様に候補品の製造期間を考慮した。

2. 公募結果

コリンエステラーゼおよび酵素標準物質（ERM）の候補品製造の応募がそれぞれ旭化成ファーマ㈱からあった。これにより候補品製造について製造を旭化成ファーマに依頼した。

3. 値付け作業

値付け作業は、前ロットと同様に共同実験方式による手順で進めた。すなわち 1）共同実験への参加依頼、2）試薬調製依頼、3）実施要綱、測定条件、報告書フォーマットの作成、4）試料配布、5）データ集計・解析、6）標準物質小委員会の開催などである。標準物質小委員会では、データの解析と認証書案の作成について行った。作成し

た認証書案および取扱説明書案は認証委員会に提出した。

4. 標準物質小委員会での協議の概要

平成 20 年 2 月 4 日に標準物質小委員会を開催し、測定データの解析と認証書案および取扱説明書案の作成を行った。本委員会における主な協議の概略は、以下のごとくである。

1）値付けについての協議

・手順としては現行 Lot を用手法で測定し、現 Lot の表示値の確認や不確かさを評価した。また、自動化法は、測定精度が高いが機器の性能を評価は難しいことから、現行 Lot で自動化法のキャリブレーションを行って新 Lot を測定したものである。

・測定結果は、用手法 8 施設で 1 施設のデータが乖離していた。施設間差が有意で、バイアル間差が有意でないので、一元配置分散分析結果で計算を行った。不確かさの計算結果は、合成標準不確かさが 0.771% 、濃度換算で 3.9827 U/L 、拡張不確かさは 1.543% 、濃度換算で 7.854 U/L となった。今回の不確かさ計算ソフトは、バリデーション中で、JCCLS の HP に掲載されているものを使用した。

・自動化法 21 施設データでは、施設間差・バイアル間差が有意なので、2 段枝分かれし、結果は合成標準不確かさが 0.487% 、濃度換算で 4.289 U/L となった。なお、1 施設はばらつきも大きくかつ測定値も乖離していた。

・Lot a を前回測定した値（508 U/L ±拡張不確かさ 8 U/L）と今回測定した値（8 施設の場合 510.4 U/L ± 拡張不確かさ 10.1 U/L 、7 施設の場合 514 U/L）ではズレが見られた。

・今回 Lot b の用手法の測定値では、乖離している 1 施設を除いて計算をすると自動棄却され 1.4~1.5 U/L と小さくなる。したがって乖離しているデータを除いた 513.0 U/L となる。

・自動化法は、前回 Lot をキャリブレータとして測定している。また、拡張不確かさが 8.1~8.6 U/L と大きくなっているが、前回 Lot a の不確かさを引継ぐので当然大きくなる。乖離している 1 施設のデータを除いて計算をすると、1 つのデータが統計上自動棄却される。

・自動化法では全施設で Lot a と Lot b で測定しているが、ほとんどの施設で Lot a が 2 U/L 高くなっている。前回 Lot の活性がこの 2 年間で落ちていないとすれば、この 2 U/L は明らかに差があることになる。

・前回 Lot の拡張不確かさが 8 U/L というのは大きい値である。

・認証値と不確かさは同じ測定法で同じ測定条件で行う場合は、不確かさも適用できるので、今回の用手法の値は 500~516 U/L のデータを出しているところは試料の安定性に問題がないとすれば再現していることになる。

・今回測定した Lot a の測定バイアル数は、1 バイアルなのでばらつきもある。すなわち大きく乖離した施設を除くと値は再現されており、総平均値も不確かさを含めた中に入っているので再現が確認されていることになる。

・用手法で乖離している 1 施設はデータの分布をみるとばらつきでなく偏りなので何か共通の因子が考えられる。温度依存性を確認したところ、温度 1℃で 3% くらいのばらつきがあったので、この値の乖離原因は測定温度以外の条件となる。

・Lot a の用手法の拡張不確かさは前回と今回を比べると今回の方が格段によい。

・前回 Lot a の半分の施設は 510~520 U/L の値で、半分は 490~500 U/L の値であった。統計的には棄却値はなかった。2 相で正規分布となっておらず、認証値は平均値をとり、不確かさは大きくなった。今回、Lot a の用手法での測定値は約 514 単位（乖離を除いた値）であった。このことから推定すると前回の測定値は高値グループ（510~520 U/L）が適正な値であったことになる。すなわち、Lot a の認証値は、高値グループルと低値グループを平均したために低目にでている可能性がある。

・今回の値を自動化法で決めるのであれば、前回の不確かさも含むことになる。前回の用手法は不確かさが大きくなっているが、今回の不確かさは小さくなっている。もし今回のデータが採

用されるのであれば、それ以降自動化法の不確かさも小さくなり、より安定な確かなデータの基礎になる。
- 2.4 U/L は大きな問題とはならないが、ここで是正しないと、毎回用手法で確認する時に正しい値であったかどうかという問題をひきずることになる。
- 本来はキャリブレータを使用しない方法が正しいが、JCCLS CRM-001（ERM）の場合は、n 数が集まらなかったが、今回のラボ数は統計上、問題のない数である。
- 臨薬検査薬協会としては 2 U/L の差は自動分析法で問題がでてくることが想定される。サーベイでは一斉に JCCRM CRM-002 が使われ、測定値差が指摘される場合が想定されるので、事前に情報公開が可能である今、是正する方が適切であろう。
- 5 % というのは一応決まっており、今回はその中に入っている。今の分析精度がよすぎるので逆にみえてきている。
- Lot a との比較でユーザーに混乱を与えないのであれば、より正しい方にしておく方が以後問題は生じない。
- 第 1Lot の Lot a はどうしても技術的に未熟であったので、仕方がない部分がある。今回の Lot は真値に近い。
- 併行実験したときに差がみえるのをどうするか。NIST でも同じようなことはある。
- このような過程・説明が公開され、それに合わせたので 2 U/L ずれるというのであれば、臨床検査薬協会としては顧客に説明がしやすい。
- 用手法の 1 施設のデータを追加し、また、乖離データを除き、棄却なしのデータは 512 U/L となり、これで併行実験をすると 4 U/L くらいずれる。
- ERM のトレーサビリティでは、メーカーはワンクッション入れてもよいし、直接つなげてもよい。マトリックスが血清と同じにならないので、メーカーではファクターを入れて補正をしている。測定原理上適用できないのでワンクッション入れている場合もある。直にユーザーが使用するものではないことが基本である。
- 全施設の平均値をとるのは理解しやすい。IFCC から ChE の測定方法をレポートとして提出するよう求められているが、将来的にこの方法が IFCC 法となり、用手法で測定した場合は、日本から出ている標準物質は合わないといわれる可能性はある。いずれどこかの時点で正しい値に戻すというのは必要となる。
- 製品は凍結乾燥品であるので、バイアル間がありえる。
- 今年度の日本医師会精度管理調査では JSCC 標準化対応法を使用している施設が多くなっている。JSCC 標準化対応法の使用施設は約 70% であった。
- 標準物質の性格からは技術も上がった今回の値が正確なので、こちらの値を採用したほうがよいといえる。
- 前回の不確かさの間に、今回正しい値と思われる数値は入っているので、特に今回はデータの解説は必要ないのではないか。前回の値の決定のときに、表示値の不確かさの間に 13 の全施設の測定値は入っているので、追加実験をしなかった経緯がある。JCTLM では値のずれは、それが不確かさの間に入っていればよいというレポートもある。
- 次回はデータを確認して、自動化法でつければよいと考えている。
- Lot 更新のフローチャートでは、用手法で確認して認証値の範囲内であれば自動化法でつけるということになっていたが、今回用手法が基本だからそちらに戻るということについては、何か説明が必要になるのではないか。
- 試薬メーカーは説明があった方がよい。
- 自動化法を K ファクターを使わないで、キャリブレータで行うと自動化法の方が高くなる。
- 前回の自動化法は K ファクターだが、今回は前の値をひきずっている。
- 用手法と自動化法の関係をきちんとして、値をつけていくならば、自動化法の測定は実測検量係数で行ったほうがよい。
- 臨床的には低い値が問題なので、高い値の数 %

は問題にならないと思われるが、検査室のサーベイのときは問題になる。

・標準物質としてこれに変わるものはないので、モデルとして評価されるような性質にしておいたほうがよい。不確かさが小さいというのはある一定の技術を持った中で行ったという一つの指標となる。いずれ生じる問題なので、早いうちに解決したほうがよい。今回用手法で決定すれば、次回は自動化法でいける可能性も高い。測定技術が向上し、かつ安定になったことによる。

2）協議結果のまとめ

以下のごとくでまとめることとした。

・1 施設のデータは機器の校正を行う前のものであったので削除する。

3）認証書の修正

認証書の主な記載内容の変更は、以下のごとくとした。

・標準物質名称については、VIM 3 版より新しい共通名称「常用参照標準物質」を決めているのでこれを採用する。
・認証値±拡張不確かさは 512 ± 2 U/L とする
・旧名称を新 Lot の認証書・取扱説明書には入れていく。
・JCCLS CRM-001（ERM）は現 Lot が a となる。
・常用参照標準物質はメーカーの親となるもので、トレーサビリティ連鎖図としてもこれに対応される。
・保存条件は「凍結」を「冷凍」にする。

5. 認証委員会

2 月 29 日までの持ち回り会議で、認証書および取扱説明書について確認と承認を行った。

なお、認証書および取扱説明書は以下のごとくである。

最後に今回のロットの更新作業は、JCCLS 認証委員会標準物質小委員会が担当したが、測定の実施についての試薬などの準備は（社）日本臨床検査薬協会・技術委員会を通じてお願いした。また、共同実験に際しては以下のユーザー施設ならびにメーカー施設の協力を得た。ここに関係者に深く謝意を表します。

株式会社カイノス　研究所
栄研化学株式会社　品質管理部ドライ生化学グループ
関東化学株式会社　伊勢原研究所、同社ライフサイエンス部
株式会社シノテスト　品質管理部
第一化学薬品株式会社（現積水メディカル㈱）営業ｶｽﾀﾏｰｻﾎﾟｰﾄｾﾝﾀｰ分析ｸﾞﾙｰﾌﾟ
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社品質管理グループ
和光純薬工業株式会社　臨床検査薬研究所
筑波大学附属病院　検査部
日本大学医学部附属練馬光が丘病院　臨床検査部
天理よろづ相談所病院　臨床病理部
九州大学病院　検査部
（中法）HECTEF ｽﾀﾝﾀﾞｰﾄﾞﾚﾌｧﾚﾝｽｾﾝﾀｰ（現（中法）検査医学標準物質機構）
浜松医科大学医学部付属病院　検査部
千葉大学医学部附属病院　検査部
慶應義塾大学医学部　中央臨床検査部
山梨大学医学部附属病院　検査部
順天堂大学医学部附属順天堂浦安病院　検査科
デンカ生研株式会社　試薬品質管理部　CI 品質管理課
日水製薬株式会社　診断薬品証技術部　品質保証グループ
株式会社セロテック　研究所
シスメックス国際試薬株式会社　品質管理部
旭化成ファーマ株式会社　診断薬製品部　開発研究グループ